Biochimie
Chapitre 3 : Les enzymes

<table>
<tr><th colspan="3">Principe</th></tr>
<tr><td>Catalyseurs</td><td colspan="2">

- organismes vivants : siège d'un grand nombre de réactions biochimiques très diverses
- conditions plutôt douces (37°C) avec une concentration en réactif pas très élevée et un pH neutre

→ **réactions chimiques sont très lentes** même si elles sont exergoniques et donc spontanées
→ **accélérées** par des protéines particulières **: enzymes**</td></tr>
<tr><td rowspan="4">Réaction chimique</td><td colspan="2">

- **réarrangent les atomes en brisant et en formant de nouvelles réactions chimiques** → l'énergie doit être absorbée pour briser les liaisons chimiques, et de l'énergie est relâchée quand les liaisons sont modifiées
- réactifs doivent atteindre en effet un état dit **état de transition** qui est un état **instable** dans lequel les **liaisons sont plus fragiles et donc plus faciles à briser** ; c'est le point où l'énergie libre des réactifs est maximale

(même une réaction exergonique où le ΔG est négatif requiert l'absorption d'énergie pour atteindre cet état de transition)</td></tr>
<tr><td>Énergie d'activation ΔGa</td><td>

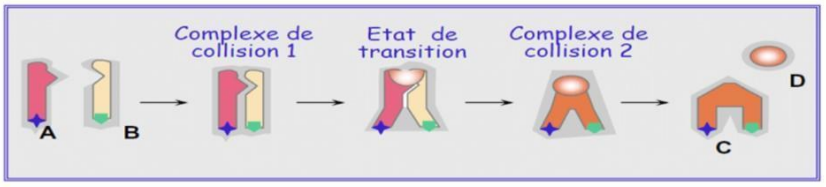
= énergie qui doit être absorbée par les réactifs pour que les liaisons puissent être modifiées

- **en présence d'enzymes ou de catalyseur, il y a abaissement de cette énergie** d'activation nécessaire

→**plus de molécules de réactifs** qui seront à l'état de transition à un moment donné, et donc la réaction se déroulera **plus vite**</td></tr>
<tr><td>Sans enzyme</td><td>

réaction **A+B ⇄ C+D** :

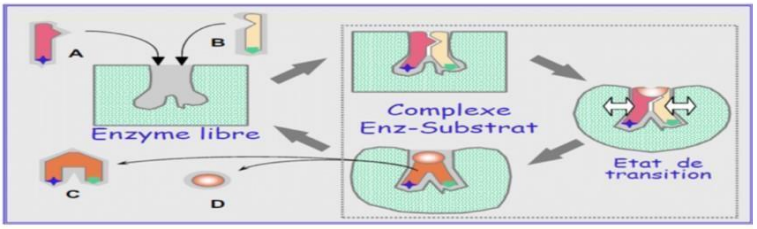
- 2 molécules A et B, par agitation naturelle peuvent former ce qu'on appelle le **complexe de collision 1**
- si cette collision apporte suffisamment d'énergie alors on peut atteindre **l'état de transition**
- permet de basculer vers le **complexe de collision 2** qui réunit les molécules C et D qui pourront se séparer



</td></tr>
<tr><td>Avec enzyme</td><td>

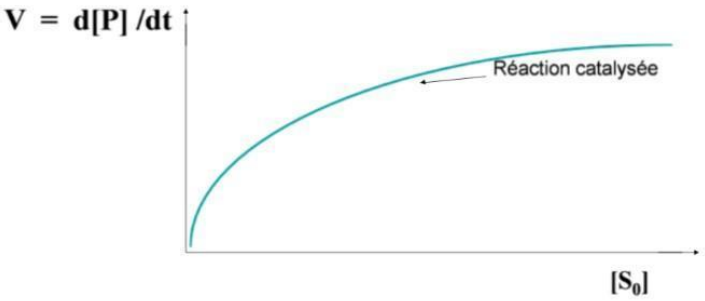
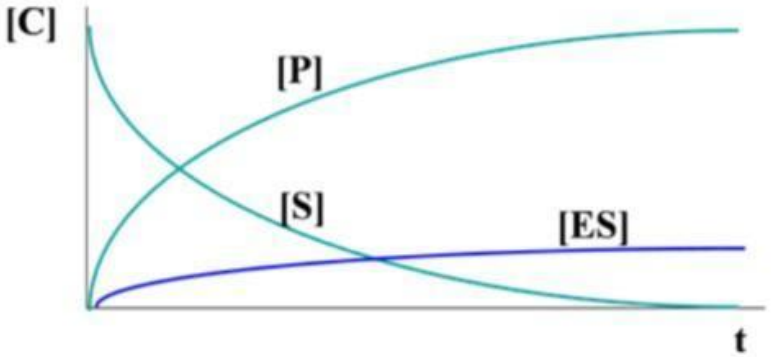
- dans son site actif : interaction facile entre A et B

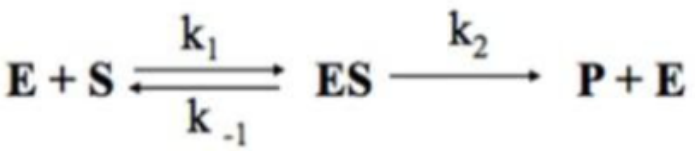
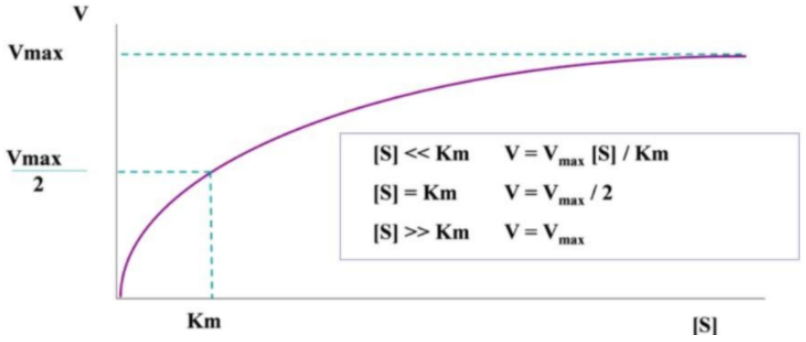
→ forme le **complexe enzyme-substrat**.
→ A et B forme rapidement **le complexe de collision 1** puis le **complexe de collision 2**, et enfin libérer les produits C et D



</td></tr>
</table>

Spécificité enzyme/substrat	
Principe	• chaque enzyme **catalyse** une **réaction particulière** • enzymes : protéines avec **forme tridimensionnelle caractéristique** • très grande **spécificité des enzymes** apportée par positionnement spatial extrêmement précis des acides aminés
Complexe enzyme/substrat	• le substrat se lie par des **liaisons hydrogènes, électrostatiques, des interactions de Van Der Waals,** ou parfois **(**rare) **des liaisons covalentes mais toujours transitoires** → **liaisons faibles entre l'enzyme et le substrat** apportent au substrat une partie de l'énergie indispensable pour l'abaissement de l'énergie d'activation • substrat se lie temporairement sur le site actif de l'enzyme (sillon que l'on retrouve à la surface des enzymes)

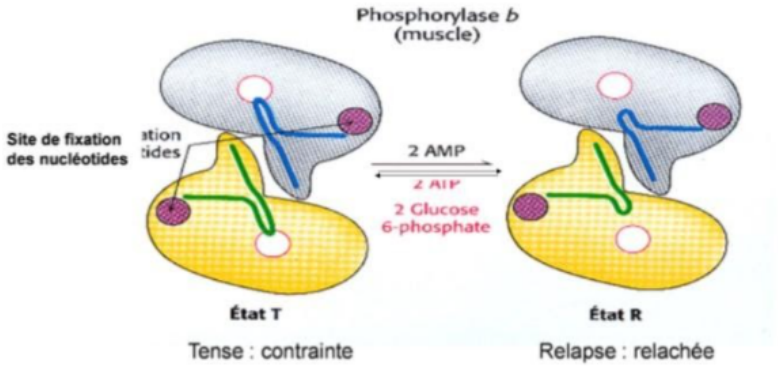
Cinétique enzymatique	
S → P	• vitesse d'une réaction enzymatique, évolue selon une relation hyperbolique avec la concentration en substrat (S → P  S=Substrat P=Produit → augmente d'abord linéairement pour les faibles concentrations en substrat ; puis qui tend vers une asymptote horizontale pour les fortes concentrations en substrat
Méthodes de mesure de la vitesse	
Conditions variables	• on augmente progressivement la concentration en substrat • on mesure par différentes techniques (spectrophotomètre) la vitesse d'apparition du produit pour chacune de ces concentrations en substrat • on trace l'évolution de la vitesse d'apparition du produit en fonction du temps pour chaque concentration → **vitesse initiale** de ces réactions : donnée par la pente de la tangente à l'origine des courbes obtenues
Modèle Michaelis et Menten	
3 réactions	

	réaction enzymatique en 3 réactions distinctes qui sont de cinétiques chimiques classiques : ● 1ère réaction : formation du complexe enzyme-substrat ● 2ème réaction : réaction inverse de celle-là, dissociation du complexe enzyme-substrat ● 3ème réaction : formation du produit avec libération de l'enzyme à partir du complexe enzyme-substrat et libération du produit  3 réactions sont de constante cinétique K1 ou K-1 ou K2 <u>Hypothèse</u> : formation du complexe enzyme-substrat se fait à la **même vitesse que sa disparition** (concentration du complexe enzyme-substrat **stable** au long de la réaction)
Graphique	 $V = V_{max} \frac{[S]}{[S] + Km}$ Km= associe les constantes K1, K-1 et K2 ● concentration en substrat est très faible **: << Km (inférieur à 1/10ème),** on néglige la **c**oncentration en substrat, on a **V= (Vmax * S) / Km** ● concentration en substrat **= Km, on a V = Vmax / 2** ● concentration en substrat **>> Km (plus de 10 fois la valeur de Km)** la vitesse est presque au maximum, t**outes les molécules d'enzyme sont bien sous forme complexée**
Km	**inverse de l'affinité de l'enzyme pour son substrat** → plus le Km est élevé, plus il faudra mettre de substrat pour obtenir le Vmax
Vitesse de la réaction enzymatique	
Vmax	**= à K2 ou Kcat x (la concentration totale en enzyme)**
Pour une enzyme donnée	● **Kcat constant** → c'est la variation de la quantité d'enzyme présente qui va faire varier Vmax → plus on met l'enzyme, plus vite se fera la réaction et plus le Vmax sera élevée lorsque l'enzyme est saturée en substrat → Kcat et la concentration en enzyme totale vont agir sur la vitesse max → **vitesse d'une réaction dépend aussi de la concentration en substrat et de l'affinité du substrat pour l'enzyme** (vont déterminer si enzyme saturée en substrat ou non)

Kcat = K2	**= turn over** • mesure pour une enzyme et une réaction donnée, la rapidité de l'enzyme à faire cette réaction • **plus Kcat est grand,** plus l'enzyme effectue un **nombre important d'actes catalytiques par seconde, et donc plus rapide sera la réaction**

Régulation des enzymes		
Enzymes	métabolisme va pouvoir choisir quelle est la route qui sera suivie celle qui correspond aux besoins de la cellule au bon moment → présence et activité d'une enzyme permet de déterminer quelle voie sera choisie	
	2 fonctions	- **catalyseur** - **orientation du métabolisme**
Isoenzymes		
Différenciation dans l'espace	plutôt qu'un mode de régulation de l'activité des enzymes	
Une réaction	• catalysée par une seule enzyme : spécifique du substrat et du produit de la réaction • pas forcément de la même manière selon l'organe concerné	
Principe	**catalysent la même réaction mais avec des paramètres de réglage, des paramètres de contrôle le Km, le Kcat différents**	
Caractéristiques	• souvent **exprimés à partir de gènes différents** • pas une séquence en aa totalement identique • **exprimés dans cellules et temps différents** • peuvent résulter d'une **composition différente en sous-unités**	
isoformes	**exprimés à partir du même gène mais qui subissent après des modifications au niveau de la protéine**	
Exemple : lactate déshydrogénase = LDH	• **5 isoenzymes tissulaires différentes** • composée de **2 types de sous unités:** - sous unité **H** pour Heart - sous unité **M** pour Muscle • ces sous unités s'assemblent au nombre de 4 pour former un **tétramère** → 5 possibilités : **H4, H3M, H2M2, HM3, M4** → forme **H4 principalement dans le cœur**, et la forme **M4 principalement dans le foie** → caractéristiques différentes de ces isoformes portent sur la **régulation, le Km, le Vmax** ; permet une meilleure adaptation de chacun des tissus	
Principaux modes de régulation		
Niveau d'expression du gène	• **influence la quantité d'enzymes présentes donc l'activité enzymatique** • niveau d'expression du gène d'une enzyme donnée peut être nul → pas cette enzyme → pas cette réaction • niveau d'expression peut-être très élevé, contrôle essentiellement transcriptionnel de l'expression des gènes	
Autre protéine	**former un complexe** qui sera soit actif soit inactif	
Protéolyse limitée	• **coupure, par une enzyme particulièr**e **= protéase** : → couper l'enzyme en un site particulier, souvent libère la forme active • protéolyse limitée car **coupure de l'enzyme en un point précis**	

Modification covalente	**Modification de certains acides aminés uniquement,** la modification la plus fréquente étant la **phosphorylation ou déphosphorylation** • **kinases** : ajout phosphate sur aa particulier rend l'enzyme **plus active** • **phosphatase :** clivage phosphate rend l'enzyme **inactive**
Inhibiteurs enzymatiques	
2 grands types	• **<u>non réversible</u>** : fixation covalente d'une petite molécule qui diminue l'activité enzymatique de manière durable • **<u>réversible</u>** ➔ **compétitive** : petite molécule qui ressemble au substrat de l'enzyme vient se fixer au site actif de l'enzyme; **compétition pour l'accès au site actif; augmentation du Km**; il faudra mettre plus de substrat pour qu'il puisse se fixer à l'enzyme ➔ **non compétitive** : petite molécule ne se fixe pas au site actif (ne gêne pas la fixation du substrat) change donc pas le Km, mais **diminue la capacité de l'enzyme à faire son acte catalytique donc diminution du Kcat ou du K2**
inhibition irréversible	• **inflammation** : transformation de l'acide arachidonique qui est dans les membranes en prostaglandines, et ceci par une enzyme qui s'appelle la **cyclooxygénase** • enzyme liée à la membrane plasmique : permet l'entrée de l'acide arachidonique (substrat) dans un canal hydrophobe • **aspirine** : l'acétate qui est sur l'acide acétylsalicylique se lie de manière covalente à un acide aminé (sérine) à l'entrée de du canal hydrophobe où rentre normalement l'acide arachidonique → bloque totalement l'entrée de celle-ci. → voie de blocage majeure de l'inflammation
inhibition compétitive	• **molécules qui ressemblent au substrat (**peuvent pas être transformés par l'enzyme) • très utilisés en tant que médicaments • **dihydrofolate DHF** : substrat de la dihydrofolate réductase → impliquée dans le métabolisme des bases puriques, métabolisme qui est essentiel dans les cellules à forte réplication comme par exemple dans les cellules cancéreuses • **méthotrexate** : molécule utilisée en chimiothérapie, similaire au substrat naturel → capacité de fixation au site actif de la DHF réductase mille fois plus forte que le DHF lui-même → inhibiteur compétitif puissant, bloquant ainsi cette enzyme ; cela va favoriser la mort des cellules cancéreuses qui dépendent fortement de l'activité de cette enzyme
Régulation allostérique	
Comportement	**ne suivent pas le modèle cinétique de Michaelis et Menten**
Structure	• toujours composées de **plusieurs sous unités identiques** • possèdent un **site autre que le site actif,** et qui est un site **où un ligand allostérique, va pouvoir venir se fixer de façon réversible** → fixation de ce ligand allostérique a pour objectif de moduler l'activité enzymatique à la hausse ou à la baisse

Ligand	• métabolite provenant du métabolisme de la cellule à un moment donné, et qui peut signaler à l'enzyme l'état métabolique de la cellule → dans les ligands allostériques on trouve **l'ATP ou l'ADP qui vont signaler à une enzyme donnée le niveau d'énergie présent dans une cellule** • pour certaines enzymes, le substrat peut-être un ligand allostérique, et souvent les enzymes des premières étapes des voies catalytiques (étapes exergoniques) sont des enzymes allostériques
Exemple : glycogène phosphatase	 • **glycogène** : réserve de glucose • peut avoir beaucoup de glycogène dans les tissus (muscle, foie) • **glycogène phosphorylase** : enzyme **dimérique** composée de **2 sous unités identiques** qui **dégrade le glycogène en glucose** → permet de fournir de l'énergie au muscle à l'effort • au repos, enzyme dans un **état T pour Tense** où elle est **inactive** • dès le début d'un effort musculaire, cet effort musculaire fait chuter la concentration de l'ATP dans les cellules musculaires, et donc la concentration en AMP va augmenter. • **fixation de l'AMP sur les sites allostériques** de l'enzyme (notés «site de fixation des nucléotides») **transforme l'enzyme dans la forme R** ; R pour **Relapse** où l'enzyme est active. • dès que la concentration en **ATP** (ou en glucose-6-phosphate) **remonte**, à ce moment-là la fixation de l'ATP ou du glucose-6-phosphate sur les mêmes sites allostériques va faire passer l'enzyme sous sa forme inactive Tense

Messages Essentiels

- La catalyse enzymatique repose sur les interactions entre l'enzyme est son substrat qui permet de diminuer l'énergie d'activation de la réaction
- La cinétique enzymatique repose sur le modèle de Michaelis et Menten qui fait intervenir 2 constantes pour chaque enzyme, K_M et K_{cat} (ou k_2)
- La notion d'isoenzymes est importante
- Les enzymes sont finement régulées par différents processus
- Des inhibiteurs peuvent être des médicaments
- L'allostérie est un mode de régulation important du métabolisme